Z med

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg
Direktor: Prof. Dr. G. Malorny

Toxikologische Prüfung von Lokalanalgetica der Lidocain-Reihe unter zahnärztlichen Gesichtspunkten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Peter Hoffmann
aus Berlin

Hamburg 1961

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg
Direktor: Prof. Dr. G. Malorny

Toxikologische Prüfung von Lokalanalgetica der Lidocain-Reihe unter zahnärztlichen Gesichtspunkten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Peter Hoffmann
aus Berlin

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg
am : 30. Mai 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan : Professor Dr. R. Prévôt
Referent : Prof. Dr. Soehring
Korreferent : Prof. Dr. Malovny

Inhaltsübersicht

Seite

3.....Einleitung

6.....Methoden

9.....Ergebnisse und Auswertung

16.....Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

25.....Zusammenfassung

26.....Literaturverzeichnis

29.....Lebenslauf

Einleitung

Die Entwicklung neuer Lokalanästhetika verlangt vom Pharmakologen immer wieder die Prüfung ihrer Wirksamkeit und vor allen Dingen ihrer toxischen Nebenwirkungen an Hand von Tierversuchen. Die Notwendigkeit der Standardisierung solcher Untersuchungen führte zur Entwicklung des Begriffes "therapeutische" bzw. "toxische Breite", das bedeutet den Abstand der minimal kurativen Dosis zur minimal toxischen, bzw. minimal toxischer zu minimal tödlicher Dosis (KILLIAN, 1959). Damit hatte man einen gewissen Anhaltspunkt von der am Menschen zu erwartenden Gefährlichkeit oder Ungiftigkeit eines Lokalanästhetikums. Diese Angaben bewegten sich in mathematisch schlecht erfaßbaren Grenzbereichen. Deswegen begann man die Gaußschen Erkenntnisse auf das biologische Material zu übertragen, obwohl man weiß, daß Tiere keine idealen statistischen Angaben vermitteln können.

In dieser Richtung bewegte sich WIECHOWSKY (1928), als er auf die Mittelwertsbestimmung hinwies. Seine einfache rechnerische Auswertungsmethode war die Grundlage zu KÄRBERS (1931) Überlegungen, der mittels einer von ihm entwickelten Formel die heute übliche mittlere tödliche Dosis angab. Dieses Verfahren wurde durch das geometrische von LITCHFIELD (1949) abgelöst, welches außer der leichteren Ermittlung der LD_{50}-Werte noch andere Vorteile einschließt, als da sind: vereinfachte Fehlerberechnung und die Möglichkeit, an Hand der Kurvenneigung Aussagen über den Wirkungscharakter der applizierten Substanz zu machen. Außerdem wird die genaue Angabe der Versuchsbedingungen (Tierart, -stamm, Applikationsweise etc.) und die Angabe über Beobachtungsdauer ($^{2,4,24h}LD_{50}$) gefordert (HARDEBECK, FRAHM u. SOEHRING; 1951). Die Wichtigkeit der Paralleluntersuchung eines Standardanalgetikums wurde unterstrichen (FRAHM, 1958).

GOLDBERG (1947) erweiterte das Untersuchungsschema, das bis dahin nur Bedingungen vorsah, die zum Tode des Versuchstieres

führten ("Alles- oder Nichts"-Gesetz). Er verabreichte subletale Dosen, die nur Krämpfe auslösten. Da diese Vergiftungsbild bei Benutzung größerer Versuchstiere gut zu beobachten ist, können daraus ergänzend Schlüsse auf Wirkung und Entgiftung gezogen werden.

Diese Methoden beschränken sich auf die in der Pharmakologie bisher üblichen Applikationsorte: subcutan, intraperitoneal, intravenös. SOEHRING (1952) verlangte in einem Vortrag vor der Schweizer Zahnärzteschaft speziell für die Zahnheilkunde, daß Toxizitätsbestimmungen auch die Injektionsverhältnisse der Praxis berücksichtigen sollten, da die Giftigkeit eines Arzneimittels mit den Applikationsorten oft außerordentlich wechselt. Auf Zwischenfälle bei therapeutischen Eingriffen im Kopf-, Halsgebiet unter Lokalanästhesie weißt auch (1959) KILLIAN hin.

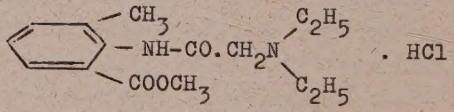
Erste Schritte in dieser Richtung unternahm HARNISCH (1953), indem er subletale Dosen einem verhältnismäßig großen Versuchstier, dem Kaninchen, in die Umschlagfalte im Mundvorhof injizierte. Auf diese Weise untersuchte er Novocain mit Adrenalinzusatz, wobei er die Vergiftungserscheinungen ("headdrop") beschrieb. Eine schematisierende Darstellung derartiger Effekte findet man in der Arbeit von SOEHRING, SCRIBA, FRAHM u. ZÖLLNER (1951), die nach einmaliger intravenöser Injektion eines Versuchsstoffes drei Stadien beobachteten:
1. Erlöschen der Stellreflexe, 2. Seitenlage mit Krämpfen,
3. Opisthotonus in Seitenlage.
Auch STÜBEN (1954) bediente sich der Methode von HARNISCH zur Prüfung diverser Lokalanästhetika.

Auf der Grundlage beider Arbeiten entwickelte SCHRÖDER (1958) eine Standardmethode, die den Forderungen von SOEHRING entsprach. Er unterteilte das Stadium I in Ia (Erlöschen der Stellreflexe) und Ib (flache Bauchlage) und fügte die Injektion am Gaumen hinzu.

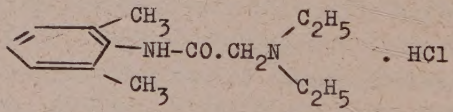
HORN (1959) lehnte sich in ihren Versuchen dieser Arbeit an, während wir als dritten Applikationsort die Mandibularloge einführten.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Prüfung zweier neuer Lokalanästhetika; als Standardanalgetikum wurde Lidocain verwendet.

Baycain®[x] wurde aus einer größeren Reihe von Stoffen, die von HILTMANN synthetisiert worden sind, auf Grund pharmakologischer Untersuchungen ausgewählt (WIRTH, 1960). Man hatte dabei im Auge, ein Lokalanästhetikumsvon der Wirkung des Lidocain und mit den gewebsfreundlichen Eigenschaften des Procain herzustellen. Es handelt sich chemisch um 3-Methyl-2-dieäthylamino-acetylamino-benzoesäuremethylester-Hydrochlorid von der Formel:



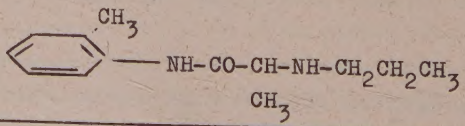
Die chemische Verwandschaft mit Lidocain zeigt dessen Formel:



Die umfassenden Arbeiten von LÖFGREN sei 1948 und WIEDLING (1959) erübrigen es, näher auf die Beschreibung der Lidocain-wirkungen einzugehen.

L 67[xx] und Lidocain unterscheiden sich dadurch, daß ersteres nur eine Methylgruppe in ortho-Stellung zur Aminogruppe im Benzolring hat und somit ein Derivat von Toluidin und nicht von Xylidin ist. Seine mittlere Kette ist verzweigt und hat ein asymmetrisches C-Atom. Es ist ein sekundäres Amin, welches eine Propylgruppe trägt.(WIEDLING, 1960)

Formel:



[x] Wir danken den Farbenfabriken BAYER für die Überlassung der Substanz.

[xx] Auch der A.B.-ASTRA (Södertälje) sind wir für die Überlassung der Substanz zu Dank verpflichtet.

Methoden

1. LD_{50}-Bestimmung an weißen Mäusen

Es kamen 500 weiße Mäuse beiderlei Geschlechts aus Inzuchtstämmen zur Verwendung. Das Gewicht der Tiere bewegte sich zwischen 15 und 30 g, gleiche Lebensbedingungen waren gewährleistet. Wir waren bemüht, die Versuche in möglichst kurzer Zeit (eine Woche) durchzuführen, um Veränderungen des Tiermaterials zu vermeiden. Einen Anhaltspunkt für die LD_{50} verschafften wir uns durch Vorversuche, in dem wir jeweils drei Mäuse mit verschiedenen Mengen testeten. Bei den Hauptversuchen injizierten wir je zehn Tieren die gleiche Dosis, um dadurch die Berechnung zu vereinfachen. Jede Maus wurde kurz vor der Injektion der Lösungen gewogen und die Dosis pro Körpergewicht errechnet. Die Applikation durch eine Tuberkulinspritze subcutan unter die Rückenhaut und intraperitoneal. Die Sterblichkeitsziffer innerhalb 1,2,4 und 24 Stunden wurde beobachtet. Wir notierten auch den Ablauf des Vergiftungsbildes. Alle Substanzen wurden als Hydrochloride in 1 %iger wäßriger Lösung verwendet.

2. Bestimmung der Krampfschwelle (subletale Toxizitätsprüfung) an Kaninchen nach der Methode von SCHRÖDER

Es kamen 35 Kaninchen beiderlei Geschlechts und verschiedener Rassen zur Verwendung. Das Gewicht der Tiere bewegte sich zwischen 2,3 und 3,5 kg; sie wurden unter gleichen Lebensbedingungen gehalten (Rüben, Hafer). Bei der Durchführung der Versuche gewährten wir jedem Tier eine Erholungsphase von einer Woche. Das Kaninchen wurde gewogen und die zu applizierende Menge pro kg-Körpergewicht berechnet. Dann wurde es von einer Hilfsperson fest eingewickelt und gehalten. Das Maul wurde von einer dem Kaninchen angepaßten Mundspreize offengehalten, um eine ruhige und sichere Injektion zu ermöglichen. Diese erfolgte durch eine Rekordspritze mit Nadeln Nr. 20, da es sich gezeigt hatte, daß es besonders am Gaumen bei Verwendung größerer Nadeln zu Gewebszerreißungen kommt, die das Ergebnis verfälschen, wodurch die Schwellendosis herabgedrückt wird.

Außerdem hat man den Vorteil einer genügend gezielten Injektion (Dauer ca. 45 sec). Die Applikationsorte waren folgende:

a. Ohrvene als Vergleichsgröße

b. Mundvorhof in die Umschlagfalte gemäß der Eckzahngegend des Menschen (HARNISCH)

c. Gaumen - senkrecht zur Raphe mediana in das vordere Drittel (SCHRÖDER)

d. Mandibularloge - in einen Punkt, der durch die tastende Fingerkuppe gemäß den Gepflogenheiten der zahnärztlichen Praxis am aufsteigenden Ast bestimmt ist. (Leitungsanästhesie am Unterkiefer nach SCHUCHARDT)

Unmittelbar nach Beendigung der Injektion setzten wir das Tier, von dessen Normalverhalten wir uns vorher einen Eindruck verschafft hatten, auf den Steinfußboden des Versuchsraumes und beobachteten die Reaktion. Folgendes wurde schriftlich festgehalten:

Beginn der Krämpfe (Latenzzeit)
Ende der Krämpfe (Reaktionsdauer) gerechnet vom Ende der Injektion
Bild der Vergiftung(Stadien)

Diese unterteilen sich wie folgt:

Stadium Ia - flache Sitzhaltung mit Lordose, was sich meist durch gestörten Bewegungsdrang ankündigte.

" Ib - Bauchlage bei gespreizten Vorderläufen, z.T. mit weggestreckten Hinterläufen, oft "Schwimmbewegungen" und "headdrop".

Stadium II - Seitenlage, Streckkrämpfe der Extremitäten mit mehr oder weniger ausgeprägter Starre der Rückenmuskulatur, der sich oft eine schlaffe Seitenlage anschloß.

" III - zum vorhergehenden kommt ein ausgesprochener Opisthotonus hinzu.

Die Substanzen wurden als Hydrochloride in 2 und 4 %iger wäßriger Lösung verwendet. Die unterschiedlichen Konzentrationen waren deshalb nötig, weil man nach einer Forderung von HENN (1960) nicht mehr als 1 ccm pro Kg Körpergewicht injizieren sollte.

Die Schwellendosis ist definitionsgemäß diejenige Menge, die bei mehr als 50 % der Versuchstiere eine Reaktion auslöst, und zwar wenn möglich Stadium Ia oder Ib.

Den Abstand von der kleinsten noch wirksamen Menge bis zu der Dosis, die stärkste Reaktionen (Stadium III) hervorruft, nannten wir Dosisbereich. Um diesen auf möglichst rationelle Weise zu ermitteln, steigerten wir anfangs die Dosis mengenmäßig sehr stark, das heißt um ca. 5 mg/kg. Befanden wir uns im Wirkungsbereich, verabfolgten wir jeweils drei Tieren die ermittelte Dosis. Auf Grund ihrer Reaktion hatten wir einen Anhaltspunkt, ob der gesuchte Schwellenwert höher oder niedriger lag. Bei positivem Ausfall (Mindestzahl zwei) senkten wir die Menge in kleineren Abständen (ca. 0,25 mg/kg) so weit, bis nur noch ein Tier von dreien Krampferscheinungen zeigte. In diesem Bereich ließ sich der Schwellenwert vermuten, was wir anschließend mit je 5 Tieren zu beweisen suchten. Bei negativem Ausfall gingen wir in gleicher Weise vor, nur daß wir die Dosis steigerten.

Ergebnisse und Auswertung

1. LD_{50}-Bestimmung

Das Vergiftungsbild bei unserer Versuchsreihe deckt sich im wesentlichen mit dem anderer Autoren (u.a. WOLTERS, 1956), das heißt:

a. Umherlaufen mit unkoordinierten Bewegungen (Stelzengang)
b. Tonisch-klonische Krämpfe in allen Übergängen (Laufkrämpfe)
c. Ausgeprägter Opisthotonus in Seiten- oder Bauchlage
d. Comatöser Zustand mit flacher, schneller Atmung

Lediglich bei L 67 beobachteten wir einen etwas abgewandelten Ablauf der Vergiftungserscheinungen. Der Wirkungseintritt vollzog sich langsamer. Außerdem fiel auf, daß Stadium a und b nur angedeutet durchlaufen wurden, während c und d vorherrschten, und die Erholungsphase dauerte länger. Wir stellten fest, daß der Vergiftungserfolg bei Lidocain und Baycain® bereits nach einer Stunde entschieden war und sich auch nach 2,4 oder 24 Stunden nicht mehr änderte. (Tabelle I) Lediglich bei L 67 nach subcutaner Applikation differierten die 1- und 2-Stundenwerte, in einem Fall änderte sich der Wert sogar noch nach 4 Stunden.

In Tabelle I und II werden die Zahlen der tödlichen Vergiftungen pro Dosis in Prozent angegeben.

Tabelle I: nach subcutaner Injektion

Dosis mg/10 g	Lidocain 1 % 1 h*	Baycain® 1 % 1 h*	L 67 1 % 1 h	L 67 1 % 2 h	L 67 1 % 4 h
2,3	0 %				
2,4	20 %				
2,5	50 %				
2,75	40 %				
2,8	80 %				
3,0	80 %	10 %			
4,0		30 %			
4,5		50 %			
5,0		70 %	0 %	10 %	10 %
5,5		50 %	10 %	10 %	10 %
6,0		100 %	40 %	40 %	40 %
6,5			10 %	30 %	30 %
6,8			60 %	60 %	60 %
7,0			60 %	80 %	80 %
9,0			70 %	80 %	100 %
10,0			60 %	90 %	90 %

Die Dosis bezieht sich in mg auf 10 g Körpergewicht.
1 h^x bedeutet, daß nach 2,4, 24 Stunden keine Änderung mehr eintrat.

Tabelle II: nach intraperitonealer Injektion

Dosis mg/10 g	Lidocain 1 % 1 h^x	Baycain® 1 % 1 h^x	L 67 1 % 1 h^x
1,3	40 %		
1,5	50 %		
1,75	50 %		
1,8	80 %		10 %
2,0	80 %	20 %	40 %
2,25		30 %	50 %
2,5		60 %	80 %
3,0		90 %	

Die Auswertung der von uns gefundenen Ergebnisse erfolgte nach der Methode von LITCHFIELD u. WILCOXON (1949), einem graphischen Verfahren, das das "Wahrscheinlichkeitsnetz" zur Aufstellung der Dosis-Wirkungskurven benutzt. In diesem Koordinatensystem ist die Abszisse logarithmisch, die Ordinate nach dem Gaußschen Integral unterteilt. Um die LD_{50} der einzelnen Substanzen zu ermitteln, werden auf der Ordinate die Prozentzahlen der toten Tiere und auf der Abszisse die zugehörigen Dosen aufgesucht. Nach Eintragung aller für eine Substanz ermittelten Punkte wird durch die Punktschar eine Gerade so gelegt, daß ihr Abstand von allen zwischen 16 und 84 % liegenden Werten möglichst klein ist.

Die Abbildungen I und II zeigen die Wirkungsgeraden der von uns geprüften Substanzen.

Um die mittlere Abweichung festzustellen, muß für die Neigung der Wirkungsgeraden ein Faktor (S) errechnet werden. "N" gibt die Zahl der Versuchstiere an, die zwischen 16 und 84 % reagiert haben. Aus der Neigung S und der Tierzahl N wird mittels eines Nomogrammes der Faktor f bestimmt. Der Wert für die LD_{50} wird der graphischen Darstellung entnommen. Durch Division bzw. Multiplikation des LD_{50}-Wertes mit dem Faktor f errechnet man die Wahrscheinlichkeitsgrenzen für 19/20 Wahrscheinlichkeit.

Die Berechnungen der mittleren Abweichungen für die von uns geprüften Substanzen sind unter den graphischen Darstellungen der Abbildung I und II zu finden. Die nach dieser Methode ermittelten LD_{50}-Werte der drei geprüften Substanzen und ihre mittlere Abweichung sind nochmals in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III : LD_{50}-Werte in g/kg und deren mittlere Abweichungen

Substanz	$^{1h}LD_{50}$ g/kg	mittl. Abweich.	$^{2h}LD_{50}$ g/kg	mittl. A.
		subcutan		
Lidocain	0,270	0,258-0,280	keine Änderung	
Baycain^{R}	0,492	0,466-0,519		
L 67	0,760	0,680-0,850	0,680	0,630-0,735
		intraperitoneal		
Lidocain	0,153	0,138-0,169	keine Änderung	
Baycain^{R}	0,240	0,218-0,264		
L 67	0,215	0,201-0,230		

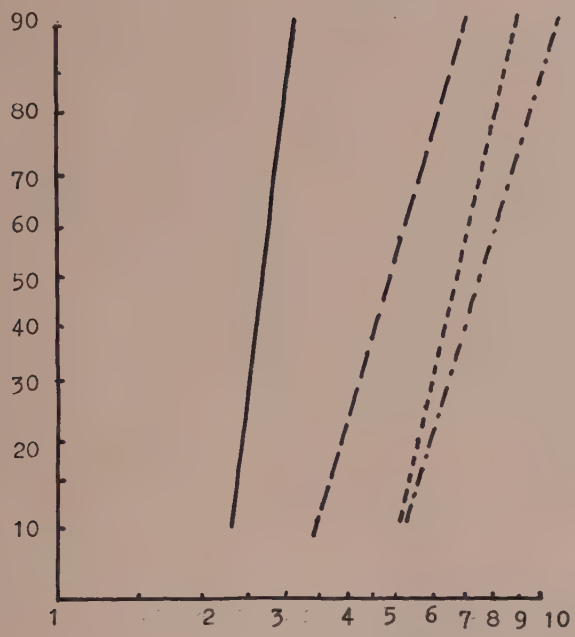
Die relative Giftigkeit bezogen auf Lidocain = 1 beträgt

subcutan : Baycain^{R} = 0,56 L 67 = 0,40

i.perit. : " = 0,64 " = 0,71

Abbildung I

subcutane Applikation



Lidocain ————

LD84 = 3,02
LD50 = 2,70 = 1,12
LD16 = 2,40 = 1,12 / 2,24

S = 1,12
N = 60
f LD50 = 1,04

LD50 = 2,70 mg/10 g (2,58 - 2,80)

Baycain — ——

LD84 = 6,54
LD50 = 4,92 = 1,33
LD16 = 3,73 = 1,32 / 2,65

S = 1,325
N = 40
f LD50 = 1,055

LD50 = 4,92 mg/10 g (5,19 - 4,66)

L 67, 1 h —·— —

LD84 = 10,00
LD50 = 7,60 = 1,31
LD16 = 5,65 = 1,34 / 2,65

S = 1,33
N = 50
f LD50 = 1,12

LD50 = 7,60 mg/10 g (8,50-6,80)

L 67, 2 h- - - - - -

LD84 = 8,40
LD50 = 6,80 = 1,26
LD16 = 5,55 = 1,22 / 2,48

S = 1,24
N = 50
f LD50 = 1,082

LD50 = 6,80 mg/10 g (7,35-6,30)

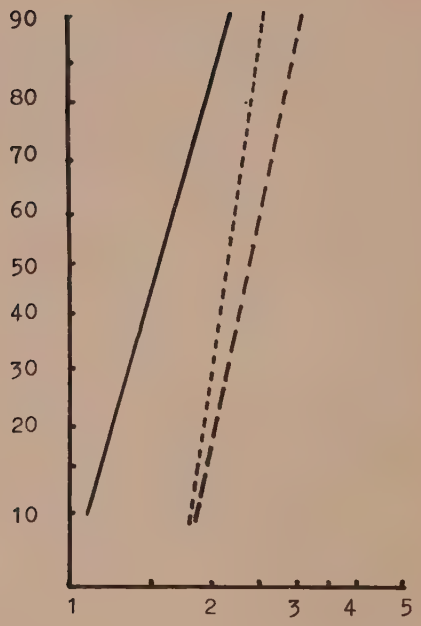


Abbildung II

intraperitoneale Applikation

Lidocain

LD84 = 2,00
LD50 = 1,53 = 1,31
LD16 = 1,19 = 1,28 / 2,59

S = 1,29
N = 50
f LD50 = 1,105

LD50 = 1,53 mg/10 g / 1,69 - 1,38

Baycain

LD84 = 2,90
LD50 = 2,40 = 1,21
LD16 = 1,98 = 1,21

S = 1,21
N = 30
f LD50 = 1,10

LD50 = 2,40 mg/10 g / 2,64 - 2,18

L 67

LD84 = 2,48
LD50 = 2,15 = 1,15
LD16 = 1,88 = 1,14 / 2,29

S = 1,145
N = 30
f LD50 = 1,07

LD50 = 2,15 mg/10 g / 2,30 - 2,01

2. Bestimmung der Schwellendosis

Die einzelnen bei diesen Versuchen gemachten Beobachtungen sind den Tabellen IV-VI (S. 15) zu entnehmen. Die Schwellendosen für den jeweiligen Applikationsort sind nochmals gesondert in Tabelle VII aufgeführt.

In der Spalte "Intoxikationssymptome" bedeutet +, daß dieses Stadium vorherrschend war, während nur in einzelnen Fällen beobachtete Stadien mit (+) bezeichnet wurden.

Es fällt auf, daß wir der Forderung, möglichst nur Stadium Ia zu erreichen, in den wenigsten Fällen gerecht werden konnten. Bei der trägen Reaktion vieler von uns verwendeter Tiere war es nach der Injektion schwer festzustellen, ob ihr mangelnder Bewegungsdrang noch als normales Verhalten oder schon als Ausdruck der beginnenden Intoxikation gewertet werden konnte.

Tabelle VII :
Schwellendosen für den jeweiligen Applikationsort

Applikationsort	Lidocain		Baycain®		L 67	
	Lösungs-konzentr.	Schwell. dosis mg/kg	Lös. kon.	Schw. dosis mg/kg	Lös. kon.	Schw. dosis mg/kg
Ohrvene	2 %	5	2 %	5,5	2 %	7
Gaumen	2 %	11	4 %	21	4 %	23
Mandibul.loge	2 %	10	4 %	21	4 %	22
Mundvorhof	2 %	17	4 %	35	4 %	35

Applikationsort	Konzentration	Schwellendosis mg/kg	Dosisbereich in mg/kg	Latenzzeit	Reaktionsdauer	Intoxikationssymptome Ia	Ib	II	III
Tabelle IV	**Lidocain**								
Ohrvene	2 %	5	4,5 - 5,5	5 - 10 sec	1 - 4 min	(+)	+	+	-
Gaumen	2 %	11	10 - 12	0,2-7 min	7 -20 min	+	+	(+)	-
Mandib.loge	2 %	10	9,5- 11	0 - 4 min	3 -20 min	-	+	(+)	-
Mundvorhof	2 %	17	16 - 19	3 - 5 min	3 -17 min	+	(+)	(+)	(+)
Tabelle V	**Baycain**								
Ohrvene	2 %	5,5	4 - 6	0 - 6 sec	12-36 sec	-	+	-	-
Gaumen	4 %	21	20 - 23	0 -40 sec	5 -22 min	-	(+)	+	-
Mandib.loge	4 %	21	20 - 22	0 -72 sec	4 -13 min	-	(+)	+	-
Mundvorhof	4 %	35	34 - 38	0,2-7 min	1 -24 min	-	+	(+)	-
Tabelle VI	**L 67**								
Ohrvene	2 %	7	6,5 - 7,5	0 - 18 sec	0,5-3 min	-	+	(+)	-
Gaumen	4 %	23	22 - 24	0 -2,5 min	3 -13 min	(+)	(+)	+	-
Mandib.loge	4 %	22	21 - 23	0 - 1 min	3,5-18min	-	(+)	+	-
Mundvorhof	4 %	35	34 - 37	2,5-5,5min	5,5-20min	-	+	+	-

Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Wir sind uns bewußt, wie auch u.a. SOEHRING (1949) betonte, daß Schlüsse von Versuchstieren auf den Menschen nur mit größter Vorsicht möglich sind; - man errechnete z.B. mit Hilfe der Rubnerschen Oberflächenregel die Humandosis aus der LD_{50} der weißen Maus, die mit den aus Vergiftungsfällen bezogenen Angaben von LAUBENDER (1939) gut übereinstimmt (KILLIAN, 1959) -. Dennoch steht vor der klinischen Erprobung einer jeden neu entwickelten Substanz als unbedingt notwendiges Hilfsmittel der Tierversuch, der Rückschlüsse auf Resorption, Abbau und Gewebefreundlichkeit ermöglicht. In diesem Sinne ist natürlich auch der Vergleich verschiedener Tierarten rein hypothetisch, zumal wenn bei den Versuchen außerdem unterschiedliche Effekte beobachtet werden, das heißt z.B. exitus bei der Maus und Krämpfe beim Kaninchen.

Nach diesen einschränkenden Vorbemerkungen wollen wir versuchen, an Hand der gefundenen Ergebnisse die untersuchten Stoffe zu vergleichen.

Es ist üblich, erstens den zu untersuchenden Stoff intravenös unter Umgehung der "Gewebeschranke" zu applizieren. Man spricht dabei von"akuter Toxizität" (HARNISCH, 1952) oder "Überfalldosis" (KILLIAN, 1959) und schließt daraus, welche Rolle die Blutbahn im "Schiksal" der Substanz spielt, das heißt Verdünnung, Transport und Abbau. Die Reaktion bei einer einmaligen Überschwemmung kommt zur Beobachtung.

Als zweites kann man das Pharmakon intraperitoneal verabreichen. Dieses Verfahren ermöglicht die Resorption aus einem gut durchbluteten Gewebe. Ähnliche Bedingungen in Bezug auf Vaskularisation findet man bei Applikation in den Gaumen bzw. in die Mandibularloge. Dieses erlaubt im wesentlichen Rückschlüsse auf die Resorptionsverhältnisse und schafft den Übergang zum dritten Ort der Injektion, nämlich in weniger gut durchblutete Gewebe wie z.B. unter die Rückenhaut der Maus (subcutan), im Mundbereich in die Umschlagfalte (Mundvorhof) des Kaninchens. Hier finden neben der Resorption der Abbau eines

Stoffes im Gewebe und seine Depotwirkung Berücksichtigung. KILLIAN (1959) gab das plastische Bild eines "Plateaus", das heißt stetige Abgabe aus dem Depot und Erhaltung einer bestimmten Konzentration im Blut über eine längere Zeit.

Inwieweit Ähnlichkeiten oder Unterschiede in der Gegenüberstellung Peritoneum/Gaumen bzw. Mandibularloge und Subcutis/Mundvorhof bestehen, wollen wir trotz obengenannter Einschränkungen bei der Besprechung der einzelnen Stoffe erörtern.

1. Intravenöse Applikation

Die für Lidocain, Baycain® und L 67 ermittelten subletalen Schwellendosen (Tabelle VII) von 5 , 5,5 und 7 mg/kg liegen annähernd in demselben Bereich. Der für ersteres von HORN (1959) gefundene Wert wurde bestätigt. SCHRÖDER (1958) stellte für Procain einen Schwellenwert von 12,5 mg/kg fest. Das bedeutet, daß diese drei Stoffe ungefähr doppelt so toxisch wie Procain sind. Auch andere Autoren unterstrichen das Verhältnis von 1:2 für Procain : Lidocain (HENN, 1960; HOLLER, 1952; KÖLZER u. WEHR, 1958). WIRTH (1960) fand bei i.v.-Injektion an Mäusen und Kaninchen, daß die akute Giftigkeit von Baycain® zwischen der von Procain und Lidocain lag. Aus unseren Versuchen geht das nicht hervor, lediglich L 67 stellt sich etwas günstiger.

Die Intoxikationssymptome (Tabelle IV-VI) entsprachen den oben gestellten Forderungen, das heißt, es wurde bei i.v.-Injektion das Stadium I kaum überschritten.

Die Latenzzeit (Tabelle IV-VI), welche Anhaltspunkte über die Aufnahmegeschwindigkeit aus dem Blut in das Gewebe gibt, war bei den drei Substanzen gleich.

Die Reaktionsdauer (Tabelle IV-VI), aus der Abbau und Ausscheidungsgeschwindigkeit hervorgehen, zeigt dagegen beträchtliche Unterschiede: Lidocain, L 67: 1 - 4 min, Baycain®: 12 - 36 sec.

Bei Lidocain und dem ihm verwandten L 67, bei denen es sich um Säureamide und nicht um einfach spaltbare Ester handelt, kann eine Zerstörung im Blute kaum ins Gewicht fallen. Untersuchungen mit dem ersteren haben ergeben, daß erst in der Leber ein oxydativer Abbau einsetzt; nur 5 % des intravenös applizierten Lidocain werden unverändert im Harn ausgeschieden (MCMAHON u. WOODS, 1951; SUNG u. TRUANT, 1954).

Die kurze Reaktionsdauer von Baycain® ließe sich vieleicht daraus erklären, daß es ein ESTER einer substituierten Benzoesäure ist. Derartige Esterbindungen sind vom toxikologischen Standpunkt sehr günstig, da sie durch die Esterasen, die sich in allen Geweben befinden, gespalten werden und somit der Abbau solcher Stoffe, wie auch SOEHRING betont, ohne besondere Belastung einzelner Organe erfolgt (HOLLER, 1955). Eine schnelle Ausscheidung durch die Nieren kann u.E. ausgeklammert werden, da sie eine besonders gute Wasserlöslichkeit voraussetzt, die sich wie z.B. beim Procain in einer kürzeren Anästhesiedauer kundtut. In dieser Beziehung zeigt aber Baycain® eine signifikant längere Wirkung (SEECK, 1961). Außerdem läßt sich auf Grund der kurzen Reaktionsdauer auch vermuten, daß die entstehenden Spaltprodukte weniger giftig sind.

Der kleine Dosisbereich (Tabelle IV-VI) unterstreicht die Gefährlichkeit einer zufälligen i.v.-Injektion selbst ohne Adrenalinzusatz!

2. Injektion in das Peritoneum/Gaumen bzw. Mandibularloge

Der von uns gefundene LD_{50}-Wert für Lidocain bei i.p.-Injektion an der weißen Maus liegt mit 0,153 g/kg (Tabelle III) im Bereich der von anderen Autoren ermittelten (HOLLER, 1952; KÖLZER u. WEHR, 1958; WIEDLING, 1959). Demgegenüber sind Baycain® mit 0,240 g/kg und L 67 mit 0,215 g/kg weniger toxisch. (Tabelle III)

Wir erwähnten oben, daß WIRTH (1960) bei i.v.-Injektion an weißen Mäusen einen Unterschied zwischen Baycain® (0,060 g/kg berechnet auf Base) und Lidocain (0,040 g/kg) feststellte. Auf Grund der guten Durchblutungsverhältnisse des Peritoneums könnte man mit gewissen Einschränkungen i.v.- und i.p.-Werte vergleichen. Unter diesen Voraussetzungen werden seine Ergebnisse bestätigt. Die Werte von Lidocain und Baycain® stehen im Verhältnis 2 zu 3.

WIEDLING (1960) fand bei intraperitonealer Injektion an weißen Mäusen einen LD_{50}-Wert für L 67 von 0,310 g/kg und für Lidocain 0,210 g/kg. Auch hier beträgt das Verhältnis 3 zu 2 und stimmt mit dem unseren überein.

Dieser Unterschied zwischen Standard (Lidocain) und den untersuchten Stoffen tritt noch deutlicher zutage, wenn wir die Schwellendosen betrachten, die bei Injektion in den Gaumen bzw. die Mandibularloge des Kaninchens erzielt wurden : Lidocain 11 bzw. 10 mg/kg, Baycain® 21 bzw. 21 mg/kg, L 67 23 bzw. 22 mg/kg (Tabelle VII). Das Verhältnis beträgt hier 1 zu 2.

Die Latenzzeit, die Aussagen über die Schnelligkeit der Einstellung einer toxischen Blutkonzentration macht, ist bei Baycain® gegenüber Lidocain und L 67 verkürzt. Das könnte man in einen gewissen Zusammenhang mit der vasokonstriktorischen Komponente des Lidocain bringen, die langsameren Abtransport aus dem Gewebe erklärt. Es ist deshalb auch im klinischen Gebrauch üblich, Lidocain z.B. bei vitium cordis ohne Zusatz von Vasokonstringentien zu verwenden. Dasselbe gilt für L 67 (BERLING u. BJÖRN, 1960).

Die Tatsache, daß die Reaktionsdauer (Tabelle IV-VI) bei allen drei Stoffen gleich ist, obwohl Lidocain ohne größere Toxizität besitzt, erklärt sich dadurch, daß von Baycain^{R} und L 67 größere Mengen im Körper wirksam waren.

Bei der Bestimmung der Schwellendosen fanden wir für alle drei Substanzen einen eng begrenzten Dosisbereich. Das zeigte sich in der Schwierigkeit, trotz kleinster Erhöhung der Mengen das geforderte Stadium I einzuhalten. Bei geringer Überschreitung der Schwellendosis entfaltete sich bereits die stärkste Reizwirkung der drei Stoffe auf das ZNS. (Stadium II, III und sogar ein exitus). Die auffallende Übereinstimmung dieser Tatsache mit der Steilheit der Kurven bei der LD_{50} nach i.p.-Injektion ist nicht von der Hand zu weisen.

3. Injektion in die Subcutis/Mundvorhof

HOLLER (1952), KÖLZER (1959) und HENN (1960) fanden bei subcutaner Applikation für Lidocain LD_{50}-Werte zwischen 0,240 und 0,278 g/kg. In diesen Bereich fällt auch der von uns ermittelte Wert von 0,270 g/kg (Tabelle III). Das Verhältnis Baycain® (0,492 g/kg) zu Lidocain ist ungefähr 2 zu 1, während das von L 67 zu Lidocain 2,5 zu 1 beträgt. HENN (1960) stellte bei seinen Untersuchungen das gleiche Verhältnis (2,5 zu 1) zwischen Procain und Lidocain fest. Mit Einschränkungen könnte man also sagen, daß L 67 bei subcutaner Applikation in seiner Toxizität der des Procain gleichkommt, zumal in unserem Falle die absoluten Zahlenwerte für Lidocain als Bezugsgröße übereinstimmen.

HENN Lidocain 0,278 g/kg....Procain 0,620 g/kg
eigene Ergebnisse " 0,270 g/kg.....L 67 0,680 g/kg

Ein Vergleich ist nur unter diesen Voraussetzungen gestattet.

In seinen vergleichenden Untersuchungen zum Lidocain (0,440 g/kg) fand WIEDLING (1960) bei Deponierung von L 67 in die Subcutis einen LD_{50}-Wert von 0,820 g/kg.

WIRTH (1960) errechnet folgende sc.-LD_{50}-Werte bezogen auf Base: Lidocain 0,40....Baycain® 0,45....Procain 0,40 g/kg.

Aus diesen Tatsachen ergibt sich, daß Baycain® und L 67 bei Applikation in weniger gut durchblutete Gewebe weniger toxisch als Lidocain sind. Eventuell liegt das darin begründet, daß durch die längere Verweildauer in der Subcutis die Angriffsmöglichkeit für die Esterasen bei Baycain® größer ist, so daß hier schon eine weitgehende Entgiftung stattfindet. Der unterschiedliche 1- und 2-Stundenwert für L 67 (Tabelle III) deutet auf eine offensichtlich verzögerte Resorption hin, so daß dieser Stoff in kleineren und somit verträglicheren Mengen in das Blut gelangt.

Bei den Versuchen am Mundvorhof des Kaninchens zeigte sich wieder, daß Lidocain doppelt so toxisch wie die beiden anderen Substanzen ist. Die Schwellendosen betragen für Lidocain 17, für Baycain® und L 67 35 mg/kg (Tabelle VII). SCHRÖDER (1958) fand einen Schwellenwert von 60 mg/kg für Procain.

Das Phänomen, das wir auf Seite 20 angesprochen hatten, nämlich kürzere Latenzzeit für Baycain®, tritt auch hier noch einmal in abgeschwächter Form in Erscheinung.

Die Reaktionsdauer (Tabelle IV-VI) ist trotz der größeren Menge im großen und ganzen die gleiche wie bei Applikation in den Gaumen bzw. die Mandibularloge. Hier spielt wie bei den Mäusen für Baycain® die größere Esterasewirkung, für L 67 die verzögerte Resorption und bei Lidocain die geringere Menge eine Rolle.

Es fällt auf, daß bei Injektion in den Mundvorhof das Stadium Ia, b (Intoxikationssymptome, Tabelle IV-VI) fast nie überschritten wurde. Wir erklären das mit der langsameren Steigerung der Konzentration im Blut. Selbst bei erheblicher Überschreitung der Schwellendosis von Baycain® und L 67 ließ sich das Stadium III nicht hervorrufen.

Im Gegensatz dazu liegt der Dosisbereich für Lidocain in derselben Größenordnung wie bei Injektion in den Gaumen.(Tabelle IV-VI). Die Steilheit der Wirkungsgeraden von Lidocain bei der subcutanen LD_{50}-Bestimmung stimmt damit überein. Die Neigung der Kurven von Baycain® und L 67 ist etwas größer (Abbildung I).

In den obigen Ausführungen haben wir der Übersichtlichkeit halber die Ergebnisse bei Injektion in das Peritoneum mit denen bei Applikation in den Gaumen bzw. die Mandibularloge erzielten im Zusammenhang betrachtet. Ebenso verfuhren wir in Bezug auf Subcutis und Mundvorhof, da jeweils ähnliche Gewebsstrukturen vorliegen. Aus der Tatsache, daß sich gewisse Parallelen zeigen ließen, darf nicht der voreilige Schluß gezogen werden, die Verhältnisse gleichzusetzen. Das beweist folgende Gegenüberstellung, bei der wir die jeweiligen Zahlenwerte so ins Verhältnis setzten, daß sie für Gaumen bzw. Peritoneum gleich 1 wurden.

	Kaninchen			Maus	
	Gaumen		Mundvorhof	ip.	sc.
Lidocain	1	:	1,5	1	: 2
Baycain®	1	:	1,7	1	: 2
L 67	1	:	1,6	1	: 3

Es ist ersichtlich, daß der Abstand zwischen Gaumen und Mundvorhof kleiner als der zwischen intraperitoneal und subcutan ist. Daraus ergibt sich u.E. die Notwendigkeit, die üblichen pharmakologischen Testmethoden durch entsprechende Versuche im Kopf- Halsgebiet zu ergänzen.

Im Zuge dieser Entwicklung (SCHRÖDER, 1958; Berücksichtigung sämtlicher Partien der Mundhöhle) haben wir die Mandibularloge mit einbezogen und konnten zeigen, daß ähnliche Durchblutungsverhältnisse wie am Gaumen angenommen werden dürfen, da die erreichten Schwellendosen übereinstimmten. Deshalb wurde eine summarische Abhandlung beider Gebiete vorgenommen.

Bei weiteren Versuchen in dieser Richtung könnte man vielleicht einen Modus finden, die Ergebnisse nach LITCHFIELD (1949) auszuwerten. Man müßte so vorgehen, daß man jeweils 10 Tiere mit der gleichen Substanzmenge testet, die reagierenden prozentual erfaßt und die Schwellendosis graphisch ermittelt. Neben der genauen Berechnung der Streuung hat man noch den Vorteil, an Hand der Kurvenneigung Aussagen über den Wirkungscharakter des zu untersuchenden Lokalanästhetikums zu machen.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei neue Lokalanästhetika Baycain® und L 67 in Bezug auf ihre letale und subletale Toxizität mit Lidocain als Standard verglichen. Zur Anwendung kam die LD_{50}-Bestimmung an weißen Mäusen mittels intraperitonealer und subcutaner Injektion, als zweites die Bestimmung der Krampfschwelle am Kaninchen nach Applikation in die Ohrvene, in den Gaumen bzw. die Mandibularloge und in den Mundvorhof.

Baycain® und L 67 sind intravenös etwas und im Gewebe auffallend besser verträglich im Vergleich zu Lidocain.

Die Ergebnisse wurden im Hinblick auf Resorption und Abbau unter besonderer Berücksichtigung der den Zahnarzt interessierenden Gesichtspunkte diskutiert.

Literaturverzeichnis

BEHRENS, B.
KÄRBER, G. : Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 177, 379 (1935)

BERLING, C.
BJÖRN, H. : in Vorbereitung, zitiert bei WIEDLING (1960)

FRAHM, M. : Anästhesist 7, 44 (1958)

GOLDBERG, L. : Svensk tandläk.-T. 40, 819 (1947) zitiert bei HENN (1960)

HARDEBECK, K.
FRAHM, M.
SOEHRING, K. : Arch. int. Pharmacodyn. 86, 472 (1951)

HARNISCH, H. : Dtsch. zahnärztl. Z. 7, 380 (1952)

Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 19, 126 (1953/54)

HENN, F. : Acta anästh. Scandinav. 4, 125 (1960)

HOLLER, W. : Zahnärztl. Welt 6, 237 (1951)

Dtsch. zahnärztl. Z. 7, 1198 (1952)

Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 56 (1955)

HORN, J. : Diss. Pharmakol. Inst. Univ. Hamburg (1959)

KÄRBER, G. : Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 162, 480 (1931)

KILLIAN, H. : Lokalanästhesie und Lokalanästhetika (1959) Georg Thieme Verlag, Stuttgart

KÖLZER, P.P.
WEHR, K.H. : Arzneimittel-Forsch. 9, 683 (1959)

LAUBENDER, W. : Heffters Handb. d. exper. Pharmakol., Erg.werk 8, Springer, Berlin (1939) zitiert bei KILLIAN (1959)

LITCHFIELD, J.T.
WILCOXON, F. : J. Pharmacol. exp. Ther. 96, 99 (1949)

MCMAHON, F.G.
WOODS, L.A. : J. Pharmacol. exp. Ther. 103, 354 (1951)

SCHRÖDER, F. : Diss. Pharmakol. Inst. Univ. Hamburg (1958)

SEECK, H. : Diss. Pharmakol. Inst. Univ. Hamburg (1961) in Vorbereitung

SOEHRING, K. : Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 62, 693 (1952)

SOEHRING, K.
SCRIBA, K.
FRAHM, M.
ZÖLLNER, G. : Arch. int. Pharmacodyn. 87, 301 (1951)

SOEHRING, K.
FRAHM, M.
MLETZKO, K. : Arch. int. Pharmacodyn. 91, 112 (1952)

STÜBEN, J. : Dtsch. zahnärztl. Z. 9, 1344 (1954)

SUNG, C.Y.
TRUANT, AP. : J. Pharmacol. exp. Ther. 112, 432 (1954)

WIECHOWSKY, W. : Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 128, 135 (1928)

WIEDLING, S. : Dtsch. zahnärztl. Z. 9, 1298 (1954)

Acta pharmacol. (Kbh.) 17, 233 (1960)

Xylocaine, Almquist & Wiksell, Stockholm (1959)

WIRTH, W.
GÖSSWALD, R. : Unveröffentl. Untersuchungen (1960)

WOLTERS, E. : Diss. Pharmakol. Inst. Univ. Hamburg (1956)

Herrn Prof. Dr. K. Soehring möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas meinen Dank aussprechen.

Auch Frau Dr. M. Frahm bin ich für die in so freundlicher Weise geleistete Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 23. Juni 1936 wurde ich in Berlin als Sohn des Dentisten Hans Hoffmann und seiner Ehefrau Rosa, geb. Knoll geboren.

Nach Evakuierung und Flucht erfolgte 1948 meine Übersiedelung nach Hamburg. Hier besuchte ich das Wilhelm-Gymnasium und legte dort im Frühjahr 1955 die Reifeprüfung ab.

Anschließend studierte ich an der Universität Hamburg zehn Semester Zahnmedizin. Im Herbst 1957 machte ich das Physikum, und im Juli 1960 bestand ich das Staatsexamen.

Druck: Photo Copie GmbH Hamburg 1